中华大蟾蜍流行疫病监测

孙政[1]，高子阳[2]，姜鹏[2*]，王浩[1*]
1上海海洋大学，国家水生动物病原库，上海201306；
2上海和黄药业有限公司，上海200023

摘要

中华大蟾蜍（学名：*Bufo gargarizans*）为蟾蜍科蟾蜍属的两栖动物，俗名癞蛤蟆，是国家“三有”保护动物，同时是重要的中药材来源。中华大蟾蜍人工增养殖技术尚在探索中，为了掌握人工养殖中华大蟾蜍的疫病流行情况。

2024年，本研究综合利用常规病原鉴定技术、养殖环境病原分离技术和16sRNA、微生物组学等对山东某养殖基地进行疫病监测和生物安保技术的探索。养殖周期内共检测332个样品，结果显示：未检出病毒性病原（蛙病毒3型、蛙虹彩病毒）、壶菌以及蛙脑膜炎败血伊丽莎白菌；检出气单胞菌（62/332）、蜡样芽孢杆菌（10/332）、柠檬酸杆菌（9/332）、不动杆菌（17/332）及线虫（65/84）;伴随降雨增多，不动杆菌检出率和蟾蜍死亡数激增。研究表明，实施标准化的生物安保技术，在开展人工中华大蟾蜍养殖过程中能有效预防流行疫病的发生，但应密切关注天气等因子的变化引起的中华大蟾蜍应激减产。

背景

- 中华大蟾蜍（*Bufo gargarizans gargarizans*）是动物药蟾酥的药源。
- 蟾酥是我国传统名贵中药材，具有抑制肿瘤细胞、强心、抗炎等作用，在临床上应用广泛。
- 目前蟾酥市场需求巨大，野生蟾蜍资源濒危，人工养殖技术不成熟，缺乏对中华大蟾蜍病害防治的研究。
- 目前，已报道的蛙类病原主要包括：蛙虹彩病毒；壶菌；蛙脑膜炎伊丽莎白菌、气单胞菌、蜡样芽孢杆菌、柠檬酸杆菌和不动杆菌等。

材料与方法

在2024年1月-8月期间，共检测样品332余份，其中蟾蜍卵带4份，体表粘液6份，种蟾幼蟾及成蟾226只，蝌蚪9份，水样43份，粪便12份，底泥32份。

- PCR
- 16S-RNA
- 环境病原菌分离纯化
- 病理切片
- 微生物组学

结果

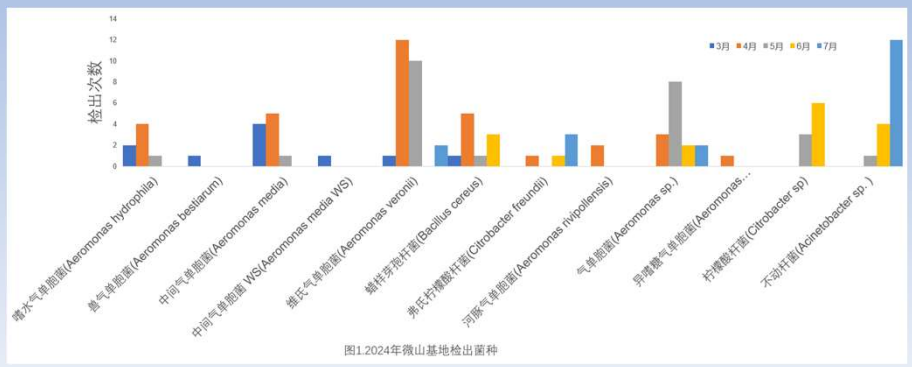

图1.2024年微山基地检出菌种

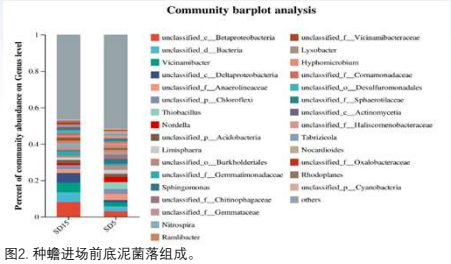

图2. 种蟾进场前底泥菌落组成。

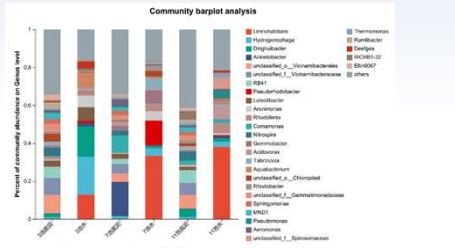

图3. 5月池塘养殖水、底泥菌落组成。

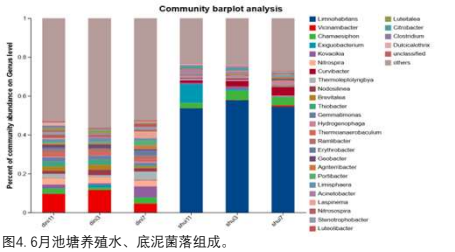

图4. 6月池塘养殖水、底泥菌落组成。

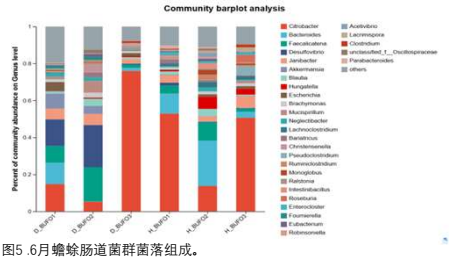

图5 .6月蟾蜍肠道菌群菌落组成。

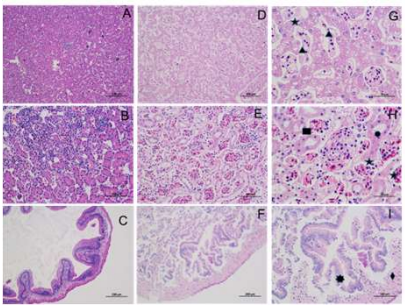

图6. 健康蟾蜍（左）雨后死亡蟾蜍（中和右）肝、肾、肠切片观察

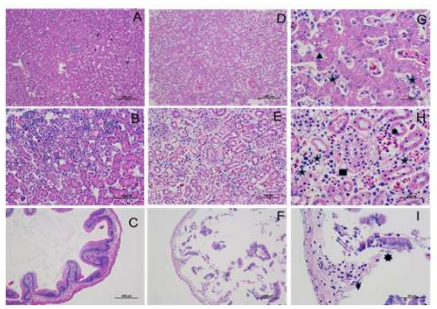

图7.健康蟾蜍（左）感染蜡样芽孢杆菌蟾蜍（中和右）肝、肾、肠切片观察

表1微山基地蟾蜍感染线虫统计

种类	样品采集总数/n	检出虫体数/n	感染率/%	平均感染强度/n
中华大蟾蜍	84	283	77.38	4.35

图8. 线虫感染蟾蜍肺部观察。

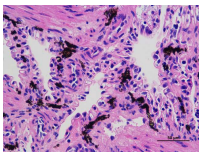
图9. 线虫感染蟾蜍肺部切片。

图10. 线虫虫体观察。

结论

- 在开展人工中华大蟾蜍养殖过程中，实施标准化的生物安保技术能有效预防流行疫病的发生
- 下雨、温度等环境因子变化是导致蟾蜍死亡的重要原因，应注重养殖过程中的抗应激措施
- 线虫鉴定结果为***Rhabdias nipponica***，感染率高，但感染强度低，不是蟾蜍死亡的主要原因